氨氮胁迫下饥饿再投喂对黄颡鱼幼鱼生长性能、血液健康、抗氧化能力及免疫应答的影响

谢雨欣　张木子　黎　明*　袁莉霞　李　冰　陈雨诗　王日昕

（宁波大学海洋学院，宁波 315211）

摘　要：为了研究氨氮胁迫下饥饿再投喂对黄颡鱼幼鱼生长性能、血液健康、抗氧化能力及免疫应答的影响，以初始体质量为（14.36±0.21） g 的黄颡鱼幼鱼为研究对象，随机分为对照组和试验组（每组 3 个重复，每个重复 30 尾），对照组人工饱食投喂 42 d，试验组饥饿 14 d 后恢复饱食投喂 28 d，2 组试验鱼都暴露于 5.7 mg/L 总氨氮中。结果显示：氨氮胁迫下饥饿 14 d 后，试验组黄颡鱼幼鱼体质量、头肾巨噬细胞吞噬指数和血清溶菌酶活性均显著低于对照组（$P<0.05$）；试验组黄颡鱼幼鱼血清谷丙转氨酶、谷草转氨酶活性和尿酸含量，肝脏超氧化物歧化酶活性和丙二醛含量均显著高于对照组（$P<0.05$）。氨氮胁迫下饥饿 14 d 再恢复投喂 28 d 后，试验组黄颡鱼幼鱼终末体质量显著低于对照组（$P<0.05$），但特定生长率显著高于对照组（$P<0.05$）；试验组黄颡鱼幼鱼血清谷丙转氨酶、谷草转氨酶、碱性磷酸酶活性及尿酸和甘油三酯含量均显著低于对照组（$P<0.05$）；试验组黄颡鱼幼鱼肝脏超氧化物歧化酶活性与对照组无显著性差异（$P>0.05$）；试验组黄颡鱼幼鱼头肾巨噬细胞吞噬指数和血清总免疫球蛋白含量显著高于对照组（$P<0.05$）；试验组黄颡鱼幼鱼头肾巨噬细胞呼吸爆发、血清总补体含量和溶菌酶活性与对照组无显著性差异（$P>0.05$）。结果表明，氨氮胁迫下，饥饿会对黄颡鱼幼鱼的生长及健康造成抑制；饥饿后再投喂，黄颡鱼幼鱼表现出部分生长补偿，血液恶化、抗氧化酶活性和免疫抑制得到不同程度的缓解。

关键词：黄颡鱼幼鱼；氨氮；饥饿再投喂；生长；抗氧化酶；免疫

中图分类号：S963　　　　　　　文献标识码：A　　　　　　　　　文章编号：

集约化养殖模式下，养殖水体中氨氮超标已经成为一种常态化的生产问题，养殖企业往往借助生物滤膜或频繁换水达到降低氨氮的目的，然而治理成本较高[1]。绝大多数养殖鱼类对氨氮非常敏感，过量的氨氮胁迫会导致其生长迟缓、鳃组织病变、器官衰竭和免疫抑制，行为表现包括：呼吸

收稿日期：2018-01-18

基金项目：国家自然科学基金项目（31472279，31502176）；宁波市自然科学基金项目（2016A610083）

作者简介：谢雨欣（1995—），女，湖北荆州人，硕士研究生，从事水生动物营养与免疫研究。E-mail: 279061347@qq.com

*通信作者：黎　明，副教授，硕士生导师，E-mail: liming1@nbu.edu.cn

过速、过度兴奋、昏厥、抽搐甚至死亡[2]。养殖生产过程中，当水体中氨氮浓度骤升或出现持续高浓度时，生产单位通常采用减少日投饲量、投饲频率或短期停止投饲等手段来降低养殖动物氨中毒现象发生的风险。许多研究发现，鱼类遭遇饥饿胁迫时可以通过消耗身体储存的物质以确保最低生存的需要，而饥饿后再投喂，鱼类往往会表现出异于正常生长的生理特征[3-4]，这种异于正常生长的现象称为补偿生长，补偿生长分为 3 种：超补偿生长[5]、完全补偿生长[6-7]和部分补偿生长[8-9]。必须指出的是，针对鱼类饥饿状态下生理变化以及饥饿后补偿生长的研究，通常是在正常生理条件（或正常养殖环境）中开展[10]，鲜有研究关注氨氮胁迫下鱼类饥饿后再投喂是否存在补偿生长的现象。

黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)为杂食偏肉食性，广泛分布于我国长江和珠江流域，是我国重要的经济养殖鱼类。据《2017 中国渔业统计年鉴》发布的权威数据，截止 2016 年底，全国黄颡鱼总产量超过 41 万 t，年增幅达 17.32%，业已成为我国重要淡水养殖种类之一[1]。黄颡鱼肉质肥美鲜嫩，其肌肉中含有人体所需的多种必需氨基酸，尤其是其没有肌间刺，深受广大老百姓的喜爱。然而，黄颡鱼高密度的养殖现状使得水体中氨氮浓度骤升频繁发生，尤其是在气温较高的夏季[11]。本研究以黄颡鱼幼鱼为研究对象，评估了氨氮胁迫下饥饿再投喂对黄颡鱼幼鱼生长性能、血液健康、抗氧化能力及免疫应答的影响，以期为黄颡鱼养殖生产中应对氨氮胁迫缓释策略的研发提供科学依据。

1　材料与方法

1.1　饲养管理

黄颡鱼幼鱼购自浙江嘉兴，暂养 30 d 后，挑选体质健康、大小均一[（14.36±0.21） g]的黄颡鱼幼鱼 180 尾，随机分配到 6 个 300 L 的塑料桶中，每桶放养 30 尾。参考黎庆等[12]报道的黄颡鱼养殖水体氨氮安全浓度，设定试验水体总氨氮浓度为 5.74~5.91 mg/L（非离子氨浓度 0.10~0.11 mg/L，pH 6.6~7.0），期望总氨氮浓度通过预配的氯化铵（NH_4Cl）母液(10 g/L）每隔 7 h 进行 1 次调整，总氨氮浓度测定采用纳氏试剂法[13]，通过计算获得非离子氨浓度[14]。养殖过程中，试验饲料为市售黄颡鱼商品饲料（粗蛋白质含量微 41%，粗脂肪含量为 4%），养殖用水为除氯自来水，日换水量为总体积的 1/3，水温 24~28 ℃，溶解氧浓度≥6.0 mg/L，pH 7.4±0.2，亚硝酸盐浓度<0.5 mg/L，保持自然光照。

1.2　试验设计及取样

将 6 桶试验鱼随机分为对照组和试验组（每组 3 桶）：对照组采用人工饱食投喂，每天投喂 2 次；试验组饥饿 14 d 后，恢复饱食投喂 28 d。分别于试验第 14 天和第 42 天时采集样品，采样前禁食 24

h，称重并记录存活数。每次每桶随机挑选 3 尾鱼，MS-222 麻醉后尾静脉抽血，4 ℃静置 4 h 后，3 000 r/min 离心 10 min 分离血清，-80 ℃保存备用；抽血后的鱼解剖获取肝脏，-20 ℃保存备用；每桶另取 3 尾鱼，无菌条件下解剖获取头肾，测定吞噬指数和呼吸爆发。

1.3 血清生化指标

血清生化指标均使用 BECKMAN AU5800 全自动生化分析仪（Beckman Coulter，美国）进行测定，其中血清总蛋白（total protein,TP）、白蛋白（albumin,ALB）、球蛋白（globulin,GLOB）和葡萄糖（glucose,GLU）含量采用宁波天康生物科技有限公司生产的试剂盒测定，总胆固醇（total cholesterol,TC）和甘油三酯（triglycerides,TG）含量采用安徽伊普诺康生物技术股份有限公司生产的的试剂盒测定，尿酸（uric acid,URCA）含量、谷丙转氨酶（glutamic-pyruvic transaminase,GPT）和碱性磷酸酶（alkaline phosphatase,AKP）活性采用宁波赛克生物技术有限公司生产的试剂盒测定，谷草转氨酶（glutamic oxalacetic transaminase,GOT）活性采用贝克曼原装生化试剂测定。

1.4 肝脏抗氧化指标测定

取冷冻的肝脏样品，按重量（g）：体积（mL）=1：9 放入预冷的磷酸缓冲液（50 mmol/L，pH 7.4），冰上匀浆，4 ℃条件下 2 000 r/min 离心 15 min 分离上清液备测。肝脏总抗氧化能力（total anti-oxidation capacity，T-AOC）测定参考 Miller 等[15]报道的方法，每分钟每毫克组织蛋白质使反应体系吸光度增加 0.01 定义为 1 个 T-AOC 单位；肝脏超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）活性测定参考 Beauchamp 等[16]报道的方法，每毫克组织蛋白质每分钟抑制氯化硝基四氮唑蓝（NBT）自氧化速率达 50%时的酶消耗量定义为 1 个酶活性单位；肝脏过氧化物酶（catalase，CAT）活性测定参考 Aebi[17]报道的方法，每毫克组织蛋白质每分钟使反应体系吸光度减少 0.1 的酶消耗量定义为 1 个酶活性单位；肝脏丙二醛（malondialdehyde，MDA）含量通过硫代巴比妥酸反应测定，参考 Buege 等[18]报道的方法。所有指标均采用商业试剂盒（南京建成生物工程研究所生产）测定，操作步骤严格按照说明书进行。

1.5 血清溶菌酶活性、总免疫球蛋白（total immunoglobulin，TIg）和总补体（total complement，CH50）含量测定

血清溶菌酶活性测定参考 Hultmark 等[19]报道的方法，测试分析采用商业试剂盒（南京建成生物工程研究所生产），操作步骤严格按照说明书进行。血清总免疫球蛋白和总补体含量测定参考 Wu 等[20]报道的方法，测试分析采用商业试剂盒（上海源叶生物科技有限公司生产），操作步骤严格按照说

明书进行。

1.6　头肾巨噬细胞吞噬指数和呼吸爆发测定

无菌条件下获取试验鱼头肾，置于 L-15（Gibco）培养基[含 100 IU/mL 青霉素（Sigma）、100 μg/mL 链霉素（Sigma）、10 IU/mL 肝素（Sigma）和 2%的小牛血清（HyClone）]中，挤压通过 100 μm 的金属筛网制得细胞悬液。将悬液于 34%/51%的 Percoll（Sigma）溶液（把 34%的 Percoll 溶液缓慢的加入到等体积的 51%Percoll 溶液中即可得到 34%/51%的 Percoll 溶液）中进行不连续梯度密度离心（4 ℃，600 r/min 离心 5 min），分离获得的巨噬细胞用 L-15 培养基冲洗数次，调整细胞浓度为 1×10^7 CFU/mL。细胞成活率用 0.01%台盼蓝测定，确保成活率>95%。吞噬指数测定参考 Pulsford 等[21]报道的方法，呼吸爆发测定参考 Stolen 等[22]报道的方法。

1.7　计算公式

存活率（survival rate,SR,%）=100×存活尾数/初始尾数；

特定生长率（specific growth rate,SGR,%/d）=100×（ln 再投喂终末体质量-ln 再投喂初始体质量）/再投喂天数；

饲料效率（feed efficiency ratio,FER，%）=100×（终末体质量-初始体质量）/干饲料消耗量。

1.8 统计分析

试验数据采用 *t* 检验进行统计学处理，结果以平均值±标准误（mean±SE）表示，差异显著性设置为 $P<0.05$。所有分析均采用 SPSS 18.0.0 软件在 Windows 操作系统中进行。

2　结　果

2.1　氨氮胁迫下饥饿对黄颡鱼幼鱼的影响

由表 1 可知，氨氮胁迫下饥饿 14 d 后，试验组黄颡鱼幼鱼的存活率与对照组无显著性差异（$P>0.05$）；试验组黄颡鱼幼鱼的体质量显著低于对照组（$P<0.05$）；试验组黄颡鱼幼鱼的血清总蛋白、白蛋白、球蛋白、总胆固醇、甘油三酯含量和碱性磷酸酶活性显著低于对照组（$P<0.05$），而血清谷丙转氨酶、谷草转氨酶活性和尿酸含量则显著高于对照组（$P<0.05$）；试验组黄颡鱼幼鱼的肝脏超氧化物歧化酶活性和丙二醛含量显著高于对照组（$P<0.05$）；试验组黄颡鱼幼鱼的头肾巨噬细胞吞噬指数和血清溶菌酶活性显著低于对照组（$P<0.05$）。

表 1　氨氮胁迫下饥饿对黄颡鱼幼鱼的影响

Table 1　Effects of starvation on juvenile yellow catfish under ammonia stress

项目 Items	对照组 Control group	试验组 Experimental group
生长性能 Growth performance		
体质量 Body weight/g	15.89±0.75	13.57±0.76*
存活率 Survival rate/%	100.00±0.00	100.00±0.00
血清生化指标 Serum biochemical indices		
总蛋白 Total protein/(g/L)	38.20±0.26	29.50±0.01*
白蛋白 Albumin/(g/L)	10.60±0.01	9.07±0.06*
球蛋白 Globulin/(g/L)	27.60±0.26	20.40±0.01*
谷丙转氨酶 Glutamic-pyruvic transaminase/(U/L)	4.33±0.58	5.67±0.58*
谷草转氨酶 Glutamic oxalacetic transaminase/(U/L)	223.33±3.51	283.33±4.04*
碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase/(U/L)	30.67±0.58	24.00±0.00*
尿酸 Uric acid/(μmol/L)	7.67±1.53	13.00±0.00*
总胆固醇 Total cholesterol/(mmol/L)	6.08±0.06	5.75±0.08*
甘油三酯 Triglycerides/(mmol/L)	8.52±0.06	2.04±0.02*
葡萄糖 Glucose/(mmol/L)	2.98±0.02	3.15±0.01
抗氧化指标 Antioxidant indices		
总抗氧化能力 Total anti-oxidation capacity/(U/mg)	0.96±0.11	1.15±0.12
超氧化物歧化酶 Superoxide dismutase/(U/mg)	57.69±11.11	129.79±9.67*
过氧化氢酶 Catalase/(U/mg)	59.04±7.84	59.63±5.56
丙二醛 Malondialdehyde/(nmol/mg)	3.27±0.18	8.65±0.61*
免疫应答 Immune response		
呼吸爆发 Respiratory burst/%	0.03±0.01	0.04±0.01
吞噬指数 Phagocytic index/%	21.27±2.42	12.47±1.29*
总补体 Total complement/(mg/mL)	79.89±4.85	80.60±6.16
总免疫球蛋白 Total immunoglobulin/(mg/mL)	16.43±1.72	15.94±0.51

溶菌酶 Lysozyme/(U/mL)	160.50±77.30	108.37±24.23*

试验组数据肩标*表示与对照组差异显著（P<0.05）。下表同。

Values in experimental group with * superscript means significant difference compared with control group (P<0.05). The same as below.

2.2 氨氮胁迫下饥饿后再投喂对黄颡鱼幼鱼的影响

由表 2 可知，氨氮胁迫下饥饿 14 d 再恢复投喂 28 d 后，试验组黄颡鱼幼鱼的存活率和饲料效率与对照组无显著性差异（P>0.05）；试验组黄颡鱼幼鱼的终末体质量显著低于对照组（P<0.05），但特定生长率显著高于对照组（P<0.05）。

表 2　氨氮胁迫下再投喂对黄颡鱼幼鱼生长性能的影响

Table 2　Effects of refeeding on growth performance of juvenile yellow catfish under ammonia stress

项目 Items	对照组 Control group	试验组 Experimental group
终末体质量 Final body weight/g	19.50±0.74	17.45±0.55*
特定生长率 Specific growth rate/(%/d)	0.78±0.05	1.11±0.11*
饲料效率 Feed efficiency ratio/%	41.08±0.44	43.37±2.69
存活率 Survival rate/%	100.00±0.00	100.00±0.00

由表 3 可知，氨氮胁迫下饥饿 14 d 再恢复投喂 28 d 后，试验组黄颡鱼幼鱼的血清谷丙转氨酶、谷草转氨酶、碱性磷酸酶活性及尿酸和甘油三酯含量显著低于对照组（P<0.05）；试验组黄颡鱼幼鱼的血清总蛋白、白蛋白、球蛋白、总胆固醇、葡萄糖含量与对照组无显著性差异（P>0.05）。

表 3　氨氮胁迫下再投喂对黄颡鱼幼鱼血清生化指标的影响

Table 3　Effects of refeeding on serum biochemical indices of juvenile yellow catfish under ammonia stress

项目 Items	对照组 Control group	试验组 Experimental group
总蛋白 Total protein/(g/L)	39.77±0.55	38.63±1.12

白蛋白 Albumin/(g/L)	11.23±0.15	11.33±0.21
球蛋白 Globulin/(g/L)	28.53±0.61	27.30±1.25
谷丙转氨酶 Glutamic-pyruvic transaminase/(U/L)	4.00±1.73	3.00±1.00*
谷草转氨酶 Glutamic oxalacetic transaminase/(U/L)	252.00±2.00	242.00±5.57*
碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase/(U/L)	30.00±0.00	27.67±0.58*
尿酸 Uric acid/(μmol/L)	10.67±1.53	8.33 ±1.15*
总胆固醇 Total cholesterol/(mmol/L)	6.53±0.02	6.35±0.08
甘油三酯 Triglycerides/(mmol/L)	6.40±0.03	4.83±0.02*
葡萄糖 Glucose/(mmol/L)	4.29±0.03	4.50±0.10

由表 3 可知，氨氮胁迫下饥饿 14 d 再恢复投喂 28 d 后，试验组黄颡鱼幼鱼的肝脏总抗氧化能力和过氧化氢酶活性显著低于对照组（P<0.05），而丙二醛含量则显著高于对照组（P<0.05）；试验组黄颡鱼幼鱼的肝脏超氧化物歧化酶活性与对照组无显著性差异（P>0.05）。

表 4　氨氮胁迫下再投喂对黄颡鱼幼鱼抗氧化指标的影响

Table 4　Effects of refeeding on antioxidant indices of juvenile yellow catfish under ammonia stress

项目 Items	对照组 Control group	试验组 Experimental group
总抗氧化能力 Total anti-oxidation capacity/(U/mg)	1.75±0.14	1.22±0.17*
超氧化物歧化酶 Superoxide dismutase/(U/mg)	46.01±5.99	47.79±4.02
过氧化氢酶 Catalase/(U/mg)	53.66±5.22	48.20±5.25*
丙二醛 Malondialdehyde/(nmol/mg)	2.24±0.98	4.58±1.82*

由表 5 可知，氨氮胁迫下饥饿 14 d 再恢复投喂 28 d 后，试验组黄颡鱼幼鱼的头肾巨噬细胞吞噬指数和血清总免疫球蛋白含量显著高于对照组（P<0.05）。试验组黄颡鱼幼鱼的头肾巨噬细胞呼吸爆发、血清总补体含量和溶菌酶活性与对照组无显著性差异（P>0.05）。

表 5　氨氮胁迫下再投喂对黄颡鱼幼鱼免疫应答的影响

Table 5　Effects of refeeding on immune response of juvenile yellow catfish under ammonia stress

项目 Items	对照组 Control group	试验组 Experimental group
呼吸爆发 Respiratory burst	1.74±0.35	1.64±0.32
吞噬指数 Phagocytic index/%	14.30±0.62	19.04±2.18*
总补体 Total complement/(mg/mL)	80.07±5.57	79.53±4.85
总免疫球蛋白 Total immunoglobulin/(mg/mL)	15.90±1.40	16.50±1.32*
溶菌酶 Lysozyme/(U/mL)	124.62±27.47	121.03±11.42

3 讨 论

3.1 氨氮胁迫下饥饿再投喂对黄颡鱼幼鱼生长性能的影响

集约化养殖模式下，由于养殖密度过大、投饲不均等原因，频繁的饥饿胁迫使得鱼类表现出零生长或负生长的现象。在本研究中，黄颡鱼幼鱼饥饿 14 d 后，其生长性能显著降低，呈现负增长趋势，但 14 d 的饥饿胁迫并未影响其存活率。大部分鱼类经历了短期饥饿后再进行投喂，能够恢复到饥饿前的生理状态，甚至存在超补偿生长的现象，这在史氏鲟（*Acipenser schrenckii*）[23]、欧鳇（*Huso huso*）[24]、虹鳟（*Oncorhynchus mykiss*）[25]、欧洲鲈鱼（*Dicentrarchus labrax*）[26]和尼罗罗非鱼（*Oreochromis niloticus*）[27]等 50 多种经济鱼类上都有过报道。姚峰等[28]研究认为，鱼类饥饿后恢复投喂，其特定生长率高于对照组即为部分补偿生长现象。在本研究中，氨氮胁迫下的试验组黄颡鱼幼鱼恢复投喂 28 d 后，尽管终末体质量还低于对照组，但特定生长率已显著高于对照组，即表现出部分补偿生长现象。但杨严鸥等[29]发现，在正常环境中，瓦氏黄颡鱼（*Pelteobaggrus vachelli*）饥饿后恢复投喂，生长性能呈现出超补偿生长现象，本试验结果与之不吻合，推测可能与氨中毒导致的生长抑制有关[30]。

3.2 氨氮胁迫下饥饿再投喂对黄颡鱼幼鱼血清生化指标的影响

血清生化指标被广泛用于评价鱼类的健康状况。其中，白蛋白参与损伤组织的修复及血浆胶体渗透压的维持，球蛋白参与机体的特异性免疫。研究发现，饥饿会引起血清总蛋白、白蛋白和球蛋白含量的降低[31]。本研究发现，饥饿 14 d 后，试验组黄颡鱼幼鱼的血清中总蛋白、白蛋白和球蛋白含量显著低于对照组，但之后通过 28 d 的恢复性投喂，试验组黄颡鱼幼鱼的血清总蛋白、白蛋白和球蛋白含量与对照组无显著性差异。结果提示，饥饿会影响组织修复、渗透压维持及免疫力，再投喂表现出明显的生理补偿现象。尿酸是嘌呤代谢的终产物，血清尿酸含量直接反映机体蛋白质分解

代谢水平。在本研究中，血清尿酸含量在饥饿后显著升高，恢复投喂后血清尿酸含量出现降低，甚至显著低于对照组，表明饥饿后鱼体内蛋白质的合成降低，分解增强，而恢复摄食能够降低机体对能量的需求。饥饿后再投喂，试验组黄颡鱼幼鱼的血清甘油三酯、总胆固醇和葡萄糖含量得到不同程度的恢复，与能量物质被运至贮脂组织中重新合成脂类有关[10]。血液中葡萄糖含量的稳定对生命活动具有十分重要的作用，饥饿胁迫下，鱼类无法从食物中获取碳水化合物，血液中葡萄糖含量的维持主要由碳源的分解和糖异生作用来实现。本研究发现，饥饿及恢复投喂后，黄颡鱼幼鱼的血清葡萄糖含量在试验组和对照组之间均无显著性差异，结果提示，短期饥饿再投喂不会影响血液中葡萄糖含量的稳定性。血清谷丙转氨酶和谷草转氨酶在蛋白质、脂质和碳水化合物的代谢过程中发挥重要的作用，而碱性磷酸酶在调节水生动物体内钙、磷吸收与维持钙、磷平衡过程中起着重要作用，是一种重要的代谢调控酶，当组织细胞受损时，它们将大量涌入血液中。在本研究中，饥饿导致黄颡鱼幼鱼血清中谷丙转氨酶和谷草转氨酶活性显著提高，通过 28 d 的恢复投喂，试验组黄颡鱼幼鱼血清中谷丙转氨酶和谷草转氨酶活性显著低于对照组。施兆鸿等[32]对条石鲷幼鱼(*Oplegnathus fascltus*)的研究显示，血清谷丙转氨酶活性在饥饿 9 d 时显著高于对照组，血清谷草转氨酶活性在饥饿 12 d 时显著高于对照组，恢复投喂后血清谷丙转氨酶和谷草转氨酶活性与对照组差异不显著；相反，田娟等[10]报道，尼罗罗非鱼血清谷丙转氨酶、谷草转氨酶和碱性磷酸酶活性在饥饿 28 d 内随着饥饿时间延长而显著降低，恢复投喂 21 d 后，血清碱性磷酸酶活性恢复到初始水平，而谷丙转氨酶和谷草转氨酶活性仍显著低于初始水平；此外，税春等[33]发现，菊黄东方鲀（*Takifugu flavidus*）饥饿 15 d 内血清谷丙转氨酶和碱性磷酸酶活性无显著变化，恢复投喂后与对照组仍无显著差异。

3.3　氨氮胁迫下饥饿再投喂对黄颡鱼幼鱼抗氧化能力的影响

总抗氧化能力反映了抗氧化酶系统和非酶系统应对外界胁迫的代谢能力，是衡量机体抗氧化能力的综合指标，与机体的健康状况密切相关[34]。Yengkokpam 等[35]研究表明，自由基的增多会使机体总抗氧化能力降低。在本研究中，尽管饥饿胁迫下黄颡鱼幼鱼的肝脏总抗氧化能力并未表现出显著性差异，但恢复投喂后，试验组黄颡鱼幼鱼的肝脏总抗氧化能力反而低于对照组，这可能与丙二醛持续积累有关。本研究发现，饥饿 14 d 后，黄颡鱼幼鱼肝脏中丙二醛含量表现出过度积累，恢复投喂后，丙二醛毒性效应并没有得到改善。前人的研究发现，环境应激会导致鱼体内产生大量氧自由基（ROS），自由基过度积累会破坏组织蛋白质结构、加剧细胞膜脂质过氧化程度和加速醛酮类物质的积累[36]。丙二醛能够与蛋白质和核酸等发生“交联聚合”，使得抗氧化酶活性逐渐丧失。丙二醛

含量的变化通常被用来作为反映机体清除自由基能力和细胞受损严重程度的重要指标[18]。此外，本研究还发现，饥饿 14 d 后，试验组黄颡鱼幼鱼的肝脏超氧化物歧化酶活性显著高于对照组，原因可能是低浓度氨氮胁迫下鱼类的超氧化物歧化酶活性往往会被激活[37]。超氧化物歧化酶是反映鱼类氧化应激的主要指标之一，超氧化物歧化酶能将超氧阴离子自由基还原为过氧化氢（H_2O_2），H_2O_2 进一步在谷胱甘肽过氧化物酶和过氧化氢酶的作用下分解成无毒的水（H_2O）和氧气（O_2）[35]。在本研究中，通过恢复投喂，黄颡鱼幼鱼的肝脏超氧化物歧化酶活性在试验组与对照组之间无显著性差异，结果提示，饥饿后恢复投喂能够缓解饥饿胁迫对黄颡鱼幼鱼抗氧化酶系统造成的损伤。

3.4 氨氮胁迫下饥饿及再投喂对黄颡鱼幼鱼免疫应答的影响

鱼类处于生物进化的低级阶段，非特异性免疫系统作为病原生物入侵时机体的第 1 道防线和第 2 道防线，起着非常重要的作用。其中，溶菌酶是重要的非特异性防御因子之一，能破坏和消除入侵体内的异物，并激活补体和吞噬细胞[38]。本研究发现，饥饿 14 d 后，试验组黄颡鱼幼鱼的血清溶菌酶活性显著低于对照组，表明饥饿能够对免疫应答造成抑制。楼宝等[39]报道，花鲈（*Lateolabrax japonicus*）分别饥饿 5、10 和 15 d 后，血清溶菌酶和脾脏溶菌酶活性未发生显著变化，10 d 饥饿组头肾溶菌酶活性在恢复投喂 10 d 后显著升高，15 d 饥饿组头肾溶菌酶活性在饥饿结束时显著降低，但恢复投喂 5 d 后与对照组无显著差异。Caruso 等[40]报道，欧洲鲈鱼（*Dicentrarchus labrax*）饥饿 31 d 后，血清和头肾溶菌酶活性未检测到显著变化，而同样处理的黑鲷（*Pagellus bogaraveo*）血清溶菌酶活性则显著下降。溶菌酶活性表现出的差异，可能与鱼种、年龄、规格和检测手段的不同以及环境因素等有关[41]。在本研究中，恢复投喂 28 d 后，黄颡鱼幼鱼的头肾巨噬细胞呼吸爆发、血清总补体含量和溶菌酶活性，试验组与对照组无显著性差异，而试验组黄颡鱼幼鱼的血清总免疫球蛋白含量和头肾巨噬细胞吞噬指数甚至显著高于对照组，提示饥饿再投喂对黄颡鱼幼鱼的免疫应答存在超补偿或完全补偿现象。

4 结　论

氨氮胁迫下，饥饿会导致黄颡鱼幼鱼生长迟缓、血液健康恶化、抗氧化酶活性和免疫应答受到抑制；饥饿后再投喂，黄颡鱼幼鱼表现出部分生长补偿，血液健康、抗氧化酶活性和免疫抑制得到不同程度的缓解。

参考文献：

[1] 农业部渔业渔政管理局.中国渔业统计年鉴[M].北京:中国农业出版社,2017.

[2] BENLI A C K,KÖKSAL G,ÖZKUL A.Sublethal ammonia exposure of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.):effects on gill,liver and kidney histology[J].Chemosphere,2008,72(9):1355–1358.

[3] CHO S H,LEE S M,PARK B H,et al.Compensatory growth of juvenile olive flounder,*Paralichthys olivaceus* L.,and changes in proximate composition and body condition indexes during fasting and after refeeding in summer season[J].Journal of the World Aquaculture Society,2006,37(2):168–174.

[4] OH S Y,NOH C H,KANG R S,et al.Compensatory growth and body composition of juvenile black rockfish *Sebastes schlegeli* following feed deprivation[J].Fisheries Science,2008,74(4):846–852.

[5] HAYWARD R S,NOLTIE D B,WANG N.Use of compensatory growth to double hybrid sunfish growth rates[J].Transactions of the American Fisheries Society,1997,126(2):316–322.

[6] XIE S,ZHU X,CUI Y,et al.Compensatory growth in the gibel carp following feed deprivation:temporal patterns in growth,nutrient deposition,feed intake and body composition[J].Journal of Fish Biology,2001,58(4):999–1009.

[7] ZHU X M,XIE S Q,LEI W,et al.Compensatory growth in the Chinese long snout catfish,*Leiocassis longirostris* following feed deprivation:temporal patterns in growth,nutrient deposition,feed intake and body composition[J].Aquaculture,2005,248(1/2/3/4):307–314.

[8] PAUL A J,PAUL J M,SMITH R L.Compensatory growth in Alaska yellowfin sole,*Pleuronectes asper*,following food deprivation[J].Journal of Fish Biology,1995,46(3):442–448.

[9] HEIDE A,FOSS A,STEFANSSON S O,et al.Compensatory growth and fillet crude composition in juvenile Atlantic halibut:effects of short term starvation periods and subsequent feeding[J].Aquaculture,2006,261(1):109–117.

[10] 田娟,涂玮,曾令兵,等.饥饿和再投喂期间尼罗罗非鱼生长、血清生化指标和肝胰脏生长激素、类胰岛素生长因子-Ⅰ和胰岛素 mRNA 表达丰度的变化[J].水产学报,2012,36(6):900–907.

[11] 赵忠波,汪帆,吴巧婉,等.放养密度对黄颡鱼的生长性能和养殖水体水质的影响[J].中国农学通报,2016,32(23):37–42.

[12] 黎庆,龚诗雁,黎明.慢性氨氮暴露诱发黄颡鱼幼鱼谷氨酰胺积累、氧化损伤及免疫抑制的研究[J].水产学报,2015,39(5):728–734.

[13] HEGAZI M M,ATTIA Z I,ASHOUR O A.Oxidative stress and antioxidant enzymes in liver and

white muscle of Nile tilapia juveniles in chronic ammonia exposure[J].Aquatic Toxicology,2010,99(2):118–125.

[14] JOHANSSON O,WEDBORG M.The ammonia-ammonium equilibrium in seawater at temperatures between 5 and 25℃[J].Journal of Solution Chemistry,1980,9(1):37–44.

[15] MILLER N J,RICE-EVANS C,DAVIES M J,et al.A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates[J].Clinical Science,1993,84(4):407–412.

[16] BEAUCHAMP C,FRIDOVICH I.Superoxide dismutase:improved assays and an assay applicable to acrylamide gels[J].Analytical Biochemistry,1971,44(1):276–287.

[17] AEBI H.Catalase *in vitro*[J].Methods in Enzymology,1984,105:121–126.

[18] BUEGE J A,AUST S D.Microsomal lipid peroxidation[J].Methods in Enzymology,1978,52:302–310.

[19] HULTMARK D,STEINER H,RASMUSON T,et al.Insect immunity.Purification and properties of three inducible bactericidal proteins from hemolymph of immunized pupae of *Hyalophora cecropia*[J].European Journal of Biochemistry,1980,106(1):7–16.

[20] WU J,SHANG H.Clinical immunology and inspection[M]//YE Y,WANG Y,SHEN Z.National Guide to Clinical Laboratory Procedures.Nanjing:Southeast University Press,2006:595–606.

[21] PULSFORD A L,CRAMPE M,LANGSTON A,et al.Modulatory effects of disease,stress,copper,TBT and vitamin E on the immune system of flatfish[J].Fish & Shellfish Immunology,1995,5(8):631–643.

[22] STOLEN J S,FLETCHER T C,ANDERSON D R,et al.Techniques in fish immunology[M].Fair Haven,NJ:SOS Publications,1990.

[23] 高露姣,陈立侨,宋兵.饥饿和补偿生长对史氏鲟幼鱼摄食、生长和体成分的影响[J].水产学报,2004,28(3):279–284.

[24] FALAHATKAR B,AKHAVAN S R,EFATPANAH I,et al.Effect of winter feeding and starvation on the growth performance of young-of-year (YOY) great sturgeon,*Huso huso*[J].Journal of Applied Ichthyology,2013,29(1):26–30.

[25] SEVGILI H,HOŞSU B,EMRE Y,et al.Compensatory growth after various levels of dietary protein

restriction in rainbow trout,*Oncorhynchus mykiss*[J].Aquaculture,2012,344–349:126–134.
[26] GAMBARDELLA C,GALLUS L,AMAROLI A,et al.Fasting and re-feeding impact on leptin and aquaglyceroporin 9 in the liver of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*)[J].Aquaculture,2012,354–355:1–6.
[27] ALI T E S,MARTÍNEZ-LLORENS S,MOÑINO A V,et al.Effects of weekly feeding frequency and previous ration restriction on the compensatory growth and body composition of Nile tilapia fingerlings[J].The Egyptian Journal of Aquatic Research,2016,42(3):357–363.
[28] 姚峰,甄恕其,何爱华,等.初始体重差异对黄颡鱼补偿生长的影响[J].淡水渔业,2008,38(5):65–69.
[29] 杨严鸥,姚峰.间歇性饥饿对瓦氏黄颡鱼生长及肝脏抗氧化功能的影响[J].中国饲料,2011(21):31–34.
[30] LI M,GONG S Y,LI Q,et al.Ammonia toxicity induces glutamine accumulation,oxidative stress and immunosuppression in juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*[J].Comparative Biochemistry and Physiology Part C:Toxicology & Pharmacology,2016,183–184:1–6.
[31] GAO Y,YI Y Y,WU H Z,et al.Molecular cloning and characterization of secretory and membrane-bound IgM of turbot[J].Fish & Shellfish Immunology,2014,40(2):354–361.
[32] 施兆鸿,彭士明,宋国,等.饥饿与再投喂对条石鲷幼鱼组织和血清中主要代谢酶活性及糖元含量的影响[J].水产学报,2012,36(9):1435–1442.
[33] 税春,施永海,徐嘉波,等.饥饿及恢复投喂对菊黄东方鲀生长和血清生化的影响[J].水产科技情报,2017,44(2):57–61.
[34] FENG G P,SHI X T,HUANG X R,et al.Oxidative stress and antioxidant defenses after long-term fasting in blood of Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*)[J].Procedia Environmental Sciences,2011,8:469–475.
[35] YENGKOKPAM S,DEBNATH D,PAL A K,et al.Short-term periodic feed deprivation in *Labeo rohita* fingerlings:effect on the activities of digestive,metabolic and anti-oxidative enzymes[J].Aquaculture,2013,412–413:186–192.
[36] LI S,TAN H Y,WANG N,et al.The role of oxidative stress and antioxidants in liver diseases[J].International Journal of Molecular Sciences,2015,16(12):26087–26124.

[37] SUN H J,WANG W Q,LI J J,et al.Growth,oxidative stress responses,and gene transcription of juvenile bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*) under chronic-term exposure of ammonia[J].Environmental Toxicology and Chemistry,2014,33(8):1726–1731.

[38] MAGNADOTTIR B.Immunological control of fish diseases[J].Marine Biotechnology,2010,12(4):361–379.

[39] 楼宝,史会来,毛国民,等.饥饿及恢复投饵过程中花鲈肌肉组成及非特异免疫水平的变化[J].水产学报,2008,32(6):929–938.

[40] CARUSO G,DENARO M G,CARUSO R,et al.Response to short term starvation of growth,haematological,biochemical and non-specific immune parameters in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and blackspot sea bream (*Pagellus bogaraveo*)[J].Marine Environmental Research,2011,72(1/2):46–52.

[41] BOWDEN T J.Modulation of the immune system of fish by their environment[J].Fish & Shellfish Immunology,2008,25(4):373–383.

Effects of Starvation and Refeeding on Growth Performance, Blood Health, Antioxidant Capacity and Immune Response of Juvenile Yellow Catfish under Ammonia Stress

XIE Yuxin ZHANG Muzi LI Ming* YUAN Lixia LI Bing CHEN Yushi WANG Rixin

(*School of Marine Sciences*, *Ningbo University*, *Ningbo* 315211, *China*)

Abstract: This experiment was conducted to study the effects of starvation and refeeding on growth performance, blood health, antioxidant capacity and immune response of juvenile yellow catfish （*Pelteobagrus fulvidraco*） under ammonia stress. Juvenile yellow catfish with the initial body weight of (14.36±0.21) g were randomly distributed into two groups (control group and experimental group) with three replicates per group and 30 fish per replicate. The fish in control group were fed to satiation for 42 days, and the fish in experimental group were starved for 14 days, then refeeding to satiation for 28 days. All fish were exposed to 5.70 mg/L total ammonia nitrogen. The results showed as follows: after starvation 14 for days under ammonia stress, the final body weight, head-kidney macrophage phagocytic index and serum lysozyme activity of fish in the experimental group were significantly lower than those of fish in the

*Corresponding author, associate professor, E-mail: liming1@nbu.edu.cn (责任编辑 菅景颖)

control group (P<0.05), and the experimental group showed significantly higher glutamic-pyruvic transaminase and glutamic oxalacetic transaminase activities and uric acid content in serum, superoxide dismutase activity and malondialdehyde contents in liver compared with the control group (P<0.05). After starvation for 14 days and then refeeding for 28 days under ammonia stress, the final body weight, serum glutamic-pyruvic transaminase, glutamic oxalacetic transaminase and alkaline phosphatase activities, uric acid and triglycerides contents of fish in the experimental group were significantly lower than those of fish in the control group (P<0.05), but the starvation group showed significantly higher specific growth rate, head-kidney macrophage phagocytic index and serum total immunoglobulin content compared with the control group (P<0.05). No significant differences between experimental and control groups were identified in liver superoxide dismutase activity, serum lysozyme activity and total complement content, and head-kidney macrophage respiratory burst (P>0.05). The results indicate that starvation exerts its adverse effects by interfering with growth and health of juvenile yellow catfish under ammonia stress, but the blood degradation and the suppression of antioxidant enzyme activities and immune of juvenile yellow catfish can be mitigated through manipulation of refeeding, and the fish have partially compensatory growth.

Key words: juvenile yellow catfish（*Pelteobagrus fulvidraco*）; ammonia; starvation and refeeding; growth; antioxidant enzyme; immune